

Title	Integrin-associated protein/CD47 regulates motile activity in human B-cell lines through CDC42
Author(s)	吉田, 均
Citation	
Issue Date	
oaire:version	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43259
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について こちら をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	よし だ ひとし 吉 田 均
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 6 6 4 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 14 年 1 月 31 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Integrin-associated protein/CD47 regulates motile activity in human B-cell lines through CDC42. (Integrin-associated protein/CD47は CDC42を介してヒト B 細胞株の遊走能を制御する)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 松 澤 佑 次 (副査) 教 授 北 村 幸 彦 教 授 金 倉 讓

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

血液細胞の遊走は、血液細胞の発生・分化、炎症・免疫反応の成立に深く関与していると考えられている。細胞の遊走には、インテグリンをはじめとする接着分子とそのリガンドとの相互作用による細胞骨格の制御が重要であるとされている。Integrin-associated protein (IAP)/CD47は、 $\beta 3$ インテグリンと共沈する細胞膜分子としてクローニングされ、 $\beta 3$ インテグリンの機能を制御する分子として知られている。リンパ球には CD47は豊富に発現されているが、 $\beta 3$ インテグリンの発現は認められておらず、リンパ球における IAP/CD47の役割は不明である。今回、私は、ヒト B 細胞株と抗 IAP/CD47抗体を用いてヒト B リンパ球の遊走能における IAP/CD47の役割とその分子メカニズムを明らかにすることを目的とした。

【方法ならびに成績】

1) 固相化抗 IAP/CD47抗体のヒト B 細胞株に対する影響

6 種類のヒト B 細胞株 (BALL、Nalm6、ONHL-1、Daudi、RPMI8226、OPM-2) と 2 種類の抗 IAP/CD47抗体 (B6H12、2D3) を用いて検討を行った。B6H12は、IAP/CD47と結合することにより $\beta 3$ インテグリンの機能に影響を及ぼす作用を持つが、2D3 にはその様な機能は報告されていない。ヒト B 細胞株を無血清条件で固相化抗 IAP/CD47抗体上で培養し、位相差顕微鏡にてその形態学的変化を検討した。固相化 B6H12上において 4 種類のヒト B 細胞株 (BALL、Nalm6、ONHL-1、Daudi) に白血球の遊走時に特徴的な形態変化 (polarization) が誘導された。固相化 2D3 上では polarization は誘導されなかった。BALL 細胞の細胞骨格の変化を PE-phalloidin 染色により蛍光顕微鏡を用いて検討したところ、固相化 B6H12により polarization が誘導された BALL 細胞の leading edge には lamellipodia の形成が認められた。

2) 固相化 B6H12による polarization 誘導における低分子 G 蛋白質 Rac1 および CDC42の効果

細胞骨格の制御には低分子 G 蛋白質が重要な役割を果たしている。固相化 B6H12による BALL 細胞の polarization の誘導において、低分子 G 蛋白質が関与しているか否かを検討するために、dominant negative form の Rac1 (N17Rac1) と CDC42 (N17CDC42) を BALL 細胞に導入した。これらの細胞を用いて固相化 B6H12による polarization の誘導について検討したところ、どちらの細胞も固相化 B6H12による polarization の誘導を有意に抑制した。Phalloidine 染色による検討では、N17Rac1 を導入した細胞では、F-actin の集積が乏しかったが、N17CDC42を導入した細胞では、F-actin の集積が正常であった。

入した細胞では、細胞辺縁に F-actin の集積は認められるものの、lamellipodia の形成は認められなかった。phorbol 12-myristate 13-acetate による fibronectin (FN) 上での BALL 細胞の spreading は、N17Rac1 では抑制されたが、N17CDC42では抑制されなかった。以上の結果より固相化 B6H12による polarization を誘導するシグナル伝達には CDC42がより特異的に関与していると考えられた。

3) B6H12による BALL 細胞の FN に対する遊走能における影響

培養液中に抗 IAP/CD47抗体が存在した条件下で、BALL 細胞の FN に対する遊走能を polarization assay, transmigration assay を用いて検討した。B6H12は、BALL は細胞のインテグリン $\alpha 4 \beta 1$ を介する FN に対する遊走能を促進したが、2D3 は、BALL 細胞の FN に対する遊走能には影響を及ぼさなかった。B6H12は、インテグリン $\alpha 4 \beta 1$ の affinity および avidity には影響を与えなかった。N17Rac1、N17CDC42を導入した細胞では B6H12による FN に対する遊走能の促進は認められなかった。以上の結果より、IAP/CD47は、BALL 細胞においてインテグリン $\alpha 4 \beta 1$ を介する FN に対する遊走能を制御するシグナルを伝達し、そのシグナルには CDC42が関与していると考えられた。

【総括】

IAP/CD47は、ヒト B 細胞株において CDC42を介して遊走能を制御するシグナルを伝達することが明らかになった。B リンパ球における IAP/CD47の役割およびそのシグナル伝達を解析することは、免疫反応における B リンパ球の機能を理解する上で有益な知見をもたらすと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は、6 種類のヒト B 細胞株と 2 種類の抗 CD47モノクローナル抗体を用いて、ヒト B リンパ球における CD47の機能的役割とその分子メカニズムについて検討したものである。その結果、1) 固相化抗 CD47抗体 (B6H12) により白血球の遊走時に特徴的な形態変化である polarization と lamellipodia の形成が誘導されること、2) 抗 CD47抗体 (B6H12) 処理によりヒト B 細胞株 BALL のインテグリン $\alpha 4 \beta 1$ を介するフィブロネクチンに対する遊走能が促進されること、3) 上記の現象は低分子 G 蛋白質 Rac1、CDC42の dominant negative form により有意に抑制されること、を明らかとし、CD47はヒト B リンパ球の遊走を制御する機能分子であることを示した。

リンパ球の遊走は、リンパ球の分化・成熟、炎症・免疫反応の成立に重要な役割をはたしているが、本論文によってヒト B リンパ球における CD47の役割が明らかになり、今後のリンパ球の機能解析に貢献するものと考えられ、学位授与に値すると認める。